

اثر عصاره هیدروالکلی درمنه کوهی (*Artemisia aucheri*) بر فیروز ریوی القاء شده توسط بلئومایسین در موش های صحرایی

محمد بهرامی کرکوندی*^۱، دکتر سید جمال مشتاقیان^۱، دکتر سید حسین مدنی^۱، دکتر پروین محزون^۲،

دکتر شهریار ادیبی^۲ سمیه کاظمی^۱

^۱گروه زیست شناسی- دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران، ^۲گروه پاتولوژی- دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران، ^۳دکترای عمومی

دامپزشکی- شرکت تحقیقاتی آرمان پژوهان ابن سینای اصفهان، اصفهان، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۹/۳/۵ اصلاح نهایی: ۱۹/۸/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۹/۱۰/۵

چکیده:

زمینه و هدف: فیروز ریوی عارضه جانبی مصرف بلئومایسین است که به عنوان یک ماده شیمی درمانی استفاده می شود. شواهد موجود نشان می دهد که شاید گونه های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species=ROS)، نقشی کلیدی در توسعه فیروز ریوی بازی کنند. این مطالعه جهت بررسی اثرات عصاره هیدروالکلی درمنه کوهی با خواص آنتی اکسیدانی بر فیروز ریوی القاء شده توسط بلئومایسین در موش های صحرایی طرح شد. روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۳۵ سر موش صحرایی اسپراگ- دالی به طور نیمه تصادفی به ۵ گروه هفت تایی تقسیم شدند. در چهار گروه از حیوانات جهت ایجاد فیروز ریوی بلئومایسین سولفات (5mg/kgBW) به صورت تزریق درون نایی استفاده شد دو گروه از حیوانات روزانه با مقادیر ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم عصاره درمنه کوهی و یک گروه با vitamin E (۱۰mg/kgBW) به صورت تزریق درون صفاقی به مدت دو هفته تیمار شدند. پایان دوره آزمایشی، مقادیر مالون دی آلدیید و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل در سرم خون سنجیده شد. از بافت ریه تمام حیوانات جهت تحقیقات بعدی نمونه بافت شناسی تهیه شد. داده ها با استفاده از آزمون های آماری آنالیز واریانس یک راهه و LSD تجزیه و تحلیل شد.

یافته ها: تیمار بوسیله عصاره درمنه کوهی و ویتامین E باعث کاهش سطح سرمی مالون دی آلدیید به صورت معنی دار نشد ولی در سطح سرمی ظرفیت آنتی اکسیدانی کل افزایش معنی داری داشت ($P<0/05$).

نتیجه گیری: طبق یافته های این مطالعه به نظر می رسد ترکیبات آنتی اکسیدان عصاره هیدروالکلی درمنه کوهی ممکن است اثرات درمانی بر فیروز ریوی داشته باشد.

واژه های کلیدی: بلئومایسین، فیروز ریوی، درمنه کوهی.

مقدمه:

بینایی کیسه های هوایی، رسوب کلاژن در سطح دیواره کیسه های هوایی را موجب می شود (۳،۲،۱). چنانچه علت بیماری مشخص باشد، به آن فیروز ریوی و اگر علت مشخص برای آن شناسایی نشده باشد فیروز ریوی ایدیوپاتیک نامیده می شود (۲،۱). از عوامل شناخته شده در بروز این بیماری می توان به عفونت های ویروسی ناشی از بعضی هریس ویروس ها و باکتری ها، آسیب حاصل از برخی ترکیبات معدنی مثل آزبست و سیلیکا و در نهایت عوارض جانبی پاره ای از داروهای

فیروز ریوی یکی از بیماری های بینایی دستگاه تنفسی می باشد که معمولاً با آسیب کیسه های هوایی شروع شده و در ادامه با ایجاد التهاب و تجمع کلاژن و اجزاء ماتریکس خارج سلولی در ناحیه دیواره کیسه های هوایی همراه می شود. آسیب ایجاد شده باعث تحریک سلول های اپیتلیال، آندوتلیال و در نتیجه تجمع سلول های التهابی در کیسه های هوایی می شود. در ادامه رادیکال های آزاد اکسیژن آزاد شده که ترشح انواع سیتوکاین ها را به دنبال دارد، این عوامل با تحریک تکثیر فیروبلاست ها در ناحیه

شیمیایی مثل بلئومایسین و متوتروکسات اشاره کرد (۴). بلئومایسین دارویی ضد سرطان است که جهت شیمی درمانی سرطان گردن رحم، سر، گردن و سرطان بیضه کاربرد فراوان دارد (۵). به دلیل عملکرد بسیار مناسب این دارو، جزء یکی از داروهای مناسب جهت درمان این گونه سرطان ها می باشد. اما مشکل اصلی استفاده این دارو، بروز عارضه جانبی آن یعنی فیبروز ریوی در بسیاری از موارد می باشد (۶،۵).

مکانیسم عمل بلئومایسین در ایجاد آسیب ریوی به خوبی شناخته شده نیست اما به نظر می رسد این دارو با شلات عناصری مثل آهن و مس و اتصال به مولکول اکسیژن فعال شده، کمپلکسی را ایجاد می کند، این کمپلکس به مولکول DNA متصل شده و با انتقال الکترون از آهن II به مولکول های اکسیژن رادیکال های آزاد هیدروکسیل و سوپر اکسید را ایجاد می کند، این رادیکال ها باعث شکافتگی DNA و در نهایت موجب مرگ سلول می شوند (۷). نتیجه این اعمال ایجاد التهاب، افزایش تجمع سلول های التهابی و در نهایت رسوب کلاژن در دیواره کیسه های هوایی می باشد. در ضمن مشخص شده که بلئومایسین قادر است دفاع آنتی اکسیدانی داخلی را تضعیف کرده که در نتیجه این عمل اکسیدان ها آسیب بافتی را شدت می بخشند (۸).

در تحقیقات گذشته رویکرد درمانی این بیماری در دو جهت کلی قرار گرفته: اول استفاده از ترکیبات آنتی اکسیدان چه شیمیایی و چه گیاهی، جهت حذف رادیکال های آزاد ایجاد شده و جلوگیری از پروسه التهاب و دوم استفاده از ترکیبات آنتی فیروتیک جهت درمان و حذف کلاژن رسوب یافته در دیواره کیسه های هوایی. در بیشتر مطالعات گذشته استفاده از ترکیبات آنتی اکسیدان مثل بیلی روین (۹)، ان استیل سیستین (۱۰)، ویتامین E (۱۱) جینکگلویلوپا (۱۲) و دیگر ترکیبات آنتی اکسیدان گیاهی مد نظر قرار گرفته است.

درمنه کوهی گیاهی از خانواده Compositae است که در طب قدیم به عنوان داروی ضد انگل و کرم کش یا به عنوان تب برمورد استفاده قرار می گرفته

است. ترکیبات اصلی این گیاه شامل ترکیبات سانتونینی، کومارینی و همچنین انواع فلاونوئیدها مثل کوئرستین و روتنویید می باشد که ترکیبات اخیر دارای خاصیت آنتی اکسیدانی و دارای قدرت پاک کنندگی رادیکال های آزاد اکسیژن می باشند (۱۳،۱۴). با توجه به خواص این گیاه و همچنین مطالعات صورت گرفته در زمینه استفاده از ترکیبات آنتی اکسیدان گیاهی جهت پیشگیری و درمان این بیماری و همچنین با توجه به نتایج مثبتی که در استفاده برخی از این ترکیبات به دست آمده، تصمیم گرفته شد، اثرات عصاره هیدروالکلی گیاه درمنه کوهی که در مقایسه با عصاره های آبی می تواند ترکیبات موثر بیشتری داشته باشد را بر فیبروز ریوی القاء شده توسط بلئومایسین در موش های صحرایی بررسی کنیم.

روش بررسی:

گیاه درمنه کوهی از مرکز تحقیقات منابع طبیعی اصفهان تهیه شد، جنس و گونه این گیاه توسط متخصصین گیاه شناس گروه زیست شناسی دانشگاه اصفهان تعیین گردید. نمونه هرباریومی این گیاه با شماره ۱۴۰۶۷ در هرباریوم دانشکده علوم دانشگاه اصفهان موجود می باشد.

تهیه عصاره هیدروالکلی

پس از خشک شدن سرشاخه های گلدار درمنه کوهی در سایه، به پودر تبدیل شد و سپس مقدار ۱۰۰ پودر حاصل در بالن یک لیتری ریخته شد ۴۰۰cc الکل اتیلیک ۹۰ درصد به آن اضافه شد به طوری که پودر کاملاً زیر الکل قرار گرفت. پس از آن به مدت ۲۴ ساعت روی دستگاه تکان دهنده قرار داده شد. سپس عصاره حاصل توسط کاغذ صافی و قیف بوخنر صاف شد، بر روی تفاله باقی مانده الکل اتیلیک ۷۰ درصد ریخته شد و مجدداً به مدت ۲۴ ساعت روی دستگاه تکان دهنده قرار داده شد و دوباره عصاره به دست آمده صاف و به عصاره ی اول اضافه شد. بعد از آن عصاره در دستگاه تقطیر در خلا در دمای ۶۰ درجه و دور چرخش ۷۰ تقطیر شد تا زمانی که حجم باقی مانده به یک

دانشگاه اصفهان رسید.

گروه بندی و تیمار حیوانات

۳۵ سر موش به صورت نیمه تصادفی به ۵ گروه ۷ تایی تقسیم شدند: گروه اول: کنترل سالم که به مدت ۲ هفته معادل حجم عصاره تزریقی در گروه های دیگر، سرم فیزیولوژی به صورت تزریق درون صفاقی دریافت نمودند. این عمل به منظور یکسان نمودن شوک حاصل از تزریق در تمام گروه ها انجام گرفت. گروه دوم: کنترل بیمار (بلثومایسین) که مانند گروه اول به مدت ۲ هفته با سرم فیزیولوژی تیمار شدند. گروه سوم: گروه بیماری که به مدت ۲ هفته روزانه عصاره هیدروالکلی درمنه کوهی را به میزان 100mg/kg به صورت تزریق درون صفاقی دریافت کردند. گروه چهارم: گروه بیماری که به مدت ۲ هفته روزانه عصاره هیدروالکلی درمنه کوهی را به میزان 200mg/kg به صورت تزریق درون صفاقی دریافت کردند. گروه پنجم: گروه بیماری که به مدت ۲ هفته روزانه ویتامین E به میزان 10mg/kg به صورت تزریق درون صفاقی دریافت کردند. این گروه جهت مقایسه خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره مورد نظر با Vitamin E که یک آنتی اکسیدان شناخته شده است، طراحی شد.

خون گیری، سنجش مالون دی آلدهید (MAD) و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل (T-AOC):

پس از اتمام دوره تیمار، حیوانات توسط کلروفرم بیهوش شدند و قفسه سینه آنها باز شد و مستقیم از قلب خونگیری به عمل آمد، سپس سرم خون جدا و مقدار مالون دی آلدهید (MAD) به عنوان مارکری جهت نشان دادن پراکسیداسیون لیپید بر اساس واکنش با تیوباربتوریک اسید سنجیده شد. جذب نوری نمونه ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 532nm نانومتر خوانده شد و غلظت نمونه ها بر اساس میکرومول بر لیتر بیان شد (۱۷).

جهت سنجش ظرفیت آنتی اکسیدانی کل ابتدا سوسپانسیون گلبولی انسانی تهیه شد، بعد از جداسازی پلاسما سیترا ته انسان، گلبول های قرمز باقیمانده با بفر

پنجم حجم اولیه رسید. در این حالت مخزن عصاره از دستگاه جدا و عصاره باقیمانده پس از سرد شدن سه مرتبه و هر بار با حجم 500cc کلروفرم دکانته شد. باقیمانده در ظرف پتری ریخته شد و در دمای 50°C درجه در دستگاه آون خشک گردید، بعد از خشک شدن، عصاره وزن و سپس در دمای 4°C درجه سانتیگراد نگهداری شد (۱۵). میانگین مقدار عصاره خشک به دست آمده در این روش 68g گرم به ازای هر کیلوگرم پودر گیاه می باشد.

مدل فیروز ریوی

مدل فیروز ریوی با تزریق یک تک دوز بلثومایسین سولفات (5mg/kgBW) حل شده در 500cc سرم فیزیولوژی به صورت تزریق درون نایی ایجاد شد. به طور خلاصه، پس از بیهوش کردن حیوانات با تزریق مخلوطی از کتامین وزایلازین (IM) و تراشیدن موهای زیر گلوئی حیوانات، توسط تیغ جراحی ناحیه ی پوست زیر گلو بریده شد و عضلات زیر آن به روش کند کاری از روی نای کنار زده شد (کنار زدن عضلات روی نای با پشت قیچی)، سپس با ورود برانول کوچک (آبی) به درون نای حجم مشخص از محلول بلثومایسین سولفات بر اساس وزن هر حیوان، توسط سرنگ انسولین به داخل برانول وارد شد. جهت پخش کامل بلثومایسین در ریه حدود 500cc هوا توسط سرنگ در آن دمیده شد و سپس محل جراحی با نخ ۳ صفر بخیه شد (۱۶).

حیوانات

در تحقیق حاضر از ۳۵ سر موش صحرایی اسپراگ- دالی با وزن تقریبی $200-190\text{g}$ گرم استفاده شد. موش ها از لانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی اهواز (جندی شاپور) خریداری شد و سپس به مدت دو هفته در لانه حیوانات گروه زیست شناسی دانشگاه اصفهان جهت سازگاری با محیط نگهداری شدند. در طول این مدت و در طول دوره ی تیمار آب و غذای آماده به طور آزاد در اختیار حیوانات قرار داده شد و سعی شد شرایط دمایی، رطوبت، تاریکی و روشنایی به طور مناسب مد نظر قرار گرفته شود. این مطالعه پس از تایید به تصویب کمیته اخلاق گروه زیست شناسی

در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. در مرحله بعد، از بافت ها در درجات مختلف آبیگری شد و سپس قالب گیری به عمل آمد و برش های میکروتومی به ضخامت ۴ میکرومتر تهیه شد، سپس نمونه ها جهت مشخص کردن التهاب به روش هماتوکسیلین-ائوزین و جهت نشان دادن رسوب کلاژن و تعیین درجه فیبروز به روش ماسون رنگ آمیزی شدند (۱۹). نمونه های بافتی بررسی شد و درجه التهاب و فیبروز در آنها مشخص گردید. داده ها با استفاده از آزمون های آماری آنالیز واریانس یک راهه و LSD تجزیه و تحلیل گردید.

یافته ها:

نتایج حاصل از آنالیز آماری نشان داد که اختلاف میانگین مالون دی آلدئید سرم در گروه های تیمار شده با عصاره هیدروالکلی درمانه کوهی، در مقایسه با گروه بلنومایسین پایین آمده اما اختلاف معنی دار نشان نداد ($P > 0.05$). از لحاظ عملکرد در کاهش میزان MAD دوز بالا نسبت به دوز پایین بهتر عمل کرده است. در مورد استفاده از ویتامین E اختلاف معنی دار در کاهش این فاکتور با گروه بیمار مشاهده شد و عملکرد عصاره با دوز بالا با عملکرد Vitamin E تقریباً مشابه بود (نمودار شماره ۱).

غلظت ظرفیت آنتی اکسیدانی کل (T-AOC)

غلظت ظرفیت آنتی اکسیدانی کل در هر دو دوز عصاره هیدروالکلی درمانه کوهی در مقایسه با گروه کنترل بیمار (بلنومایسین) افزایش معنی داری را نشان داد ($P < 0.05$). حتی در مقایسه با Vitamin E مقدار این فاکتور را بیشتر افزایش داده است. این نتایج، نشان از خاصیت آنتی اکسیدانی مناسب این عصاره ها می باشد. گروه ویتامین E اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه بلنومایسین نشان نداد ($P > 0.05$) (نمودار شماره ۲).

بافت شناسی

بررسی هیستوپاتولوژی بافت ریه نشان داد که میزان التهاب و فیبروز در گروه های آزمایشی، متفاوت است. این بررسی ها نتایج زیر به دست آمد (تصویر شماره ۱).

فسفات سه تا چهار مرتبه شستشو داده شد. برای انجام این کار به ازاء هر ۵/ سی سی گلبول، ۲ سی سی بافر اضافه شد و پس از مخلوط نمودن آن با گلبول های قرمز به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰rpm سانتریفیوژ شد. سپس محلول رویی جدا شد و اعمال فوق ۴ بار تکرار شد تا رنگ محلول رویی کاملاً شفاف گردید. پس از شستشوی گلبول های قرمز با استفاده از بافر یک سوسپانسیون گلبولی ۲۰ درصد تهیه گردید تا جهت سنجش ظرفیت آنتی اکسیدانی کل از آن استفاده شود. برای سنجش ظرفیت آنتی اکسیدانی کل (T-AOC) این گونه عمل شد که ۲۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون گلبولی ۲۰ درصد تهیه شده در مرحله قبل با ۵۰ میکرولیتر سرم ۱ به ۱۰ رقیق شده مخلوط شد و به مدت ۱۰ دقیقه بر روی دستگاه تکان دهنده قرار داده شد. بعد از آن ۲۰۰ میکرولیتر محلول ۷۰ میلی مولار AAPH (2,2-Azobis (2-methylpropionamidine) Dihydrochloride به آن اضافه شد و سپس به مدت دوساعت دیگر بر روی دستگاه تکان دهنده قرار داده شد. پس از این مرحله ۱ سی سی بافر فسفات به مخلوط حاصل اضافه شد و با دور ۳۰۰۰rpm به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. بعد از آن محلول رویی جدا شد و جذب نوری آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در ۵۴۰ نانومتر خوانده شد و سپس جذب نوری هر نمونه با نمونه شاهد مقایسه شد. دستگاه با بافر فسفات در ۵۴۰ نانومتر صفر شد و سپس جذب نمونه ها خوانده شد و در نهایت درصد ظرفیت آنتی اکسیدانی کل بر اساس کاهش همولیز گلبول های قرمز انسانی در نمونه سرم و مقایسه آن با نمونه شاهد با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (۱۸).

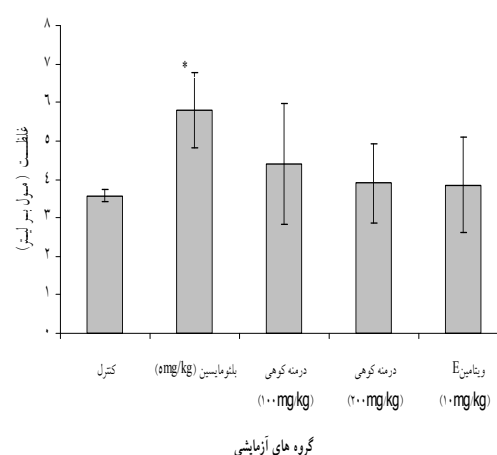
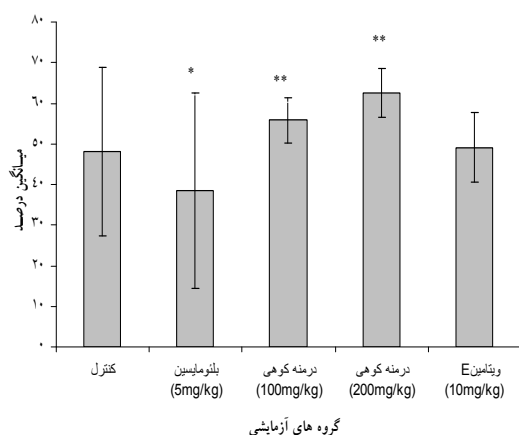
$$\text{میزان جذب شاهد} = \text{ODS}$$

$$100 \times \frac{\text{ODT} - \text{ODS}}{\text{ODS}} = \text{درصد مهار لیز گلبولی}$$

$$\text{میزان جذب نمونه} = \text{ODT}$$

بافت شناسی

در پایان دوره پس از بی هوش کردن حیوانات، قفسه سینه باز و ریه ها از آن خارج شد و پس از شستشو با سرم فیزیولوژی توسط کاغذ صافی خشک و پس از وزن کردن ریه، نصف آن جهت مطالعات بافت شناسی

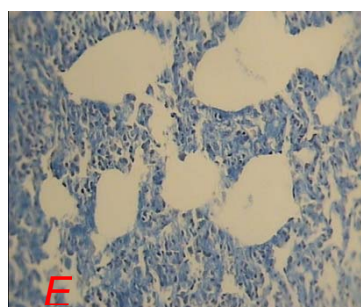
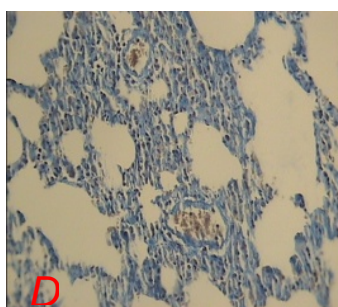
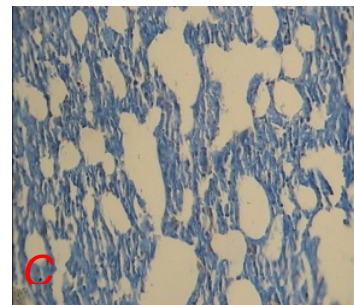
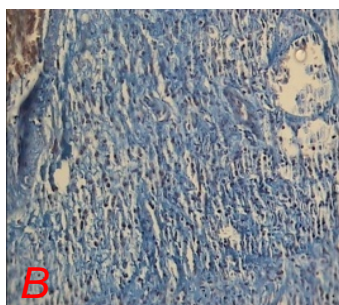
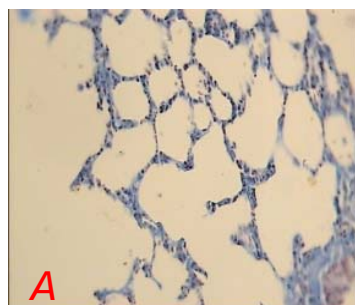


نمودار شماره ۲: درصد ظرفیت آنتی اکسیدان در گروه های آزمایشی
 $P < 0.05$ * گروه کنترل سالم
 $P < 0.05$ ** نسبت به گروه بلیتومایسین

نمودار شماره ۱: میانگین غلظت مالون دی آلدئید در گروه های آزمایشی
 $P < 0.05$ * گروه کنترل سالم

نسبی فیروز و رشته های کلاژنی در بافت ریه در گروه تیمار شده با دوز پایین عصاره درمنه (100mg) مشاهده شد (C). کاهش رسوب کلاژن در گروه تیمار شده با دوز بالای عصاره درمنه (200mg) به میزان بیشتری

در گروه کنترل سالم، بافت ریه و دیواره کیسه های هوایی طبیعی است (A). در گروه بلیتومایسین فیروز شدید همراه با تجمع کمریندهای کلاژنی و تخریب دیواره کیسه های هوایی دیده شد (B). کاهش



تصویر شماره ۱: بررسی هیستوپاتولوژی بافت ریه در گروه های مختلف

A: بافت ریه سالم در گروه کنترل بافت ریه در گروه بلیتومایسین، B: رسوب کلاژن فراوان در دیواره کیسه های هوایی به طوری که کاملاً کیسه های هوایی تخریب شده اند، C: بافت ریه در گروه درمنه کوهی دوز پایین، کاهش نسبی رسوب کلاژن در دیواره کیسه های هوایی، D: بافت ریه در گروه درمنه کوهی دوز بالا کاهش نسبتاً بالای رسوب کلاژن در کیسه های هوایی، E: بافت ریه در گروه ویتامین E کاهش نسبی رسوب کلاژن در کیسه های هوایی. اندازه تمامی تصاویر $\times 40$ می باشد.

مشاهده می شود (D). در گروه ویتامین E نیز کاهش نسبی کلاژن و فیروز در بافت ریه مشاهده می شود اما مقدار آن در مقایسه با عصاره دوز بالا کمتر است (E).

بحث:

همانطور که ذکر شد رادیکال های آزاد سوپراکسید تولید شده بوسیله کمپلکس بلئومایسین-آهن-اکسیژن باعث آسیب مستقیم به سلول های اپی تلیال و آندوتلیال بافت ریه می شوند. این آسیب اولیه باعث هجوم سلول های التهابی فعال شده، به سمت پارانشیم ریه می شود که این سلول ها موجب تحریک ترشح انواع سیتوکاین ها مثل $TGF-\beta$ و $TNF-\alpha$ می شود که در نهایت رسوب کلاژن در بافت ریه را موجب می شوند. در ضمن گونه های واکنش پذیر اکسیژن (ROS) را تولید می کنند که نقش مهمی در بیماری زایی فیروز ریوی ناشی از بلئومایسین ایفا می کنند. تلاش های زیادی جهت جلوگیری از تولید و حذف این رادیکال ها با استفاده از عوامل شلات کننده آهن و همچنین آنتی اکسیدان های گیاهی و غیر گیاهی صورت گرفته، اما هنوز نتایج قطعی جهت درمان این بیماری حاصل نشده است (۱۷). در تحقیق حاضر سعی شد از خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی گیاه درمنه کوهی جهت حذف این رادیکال ها و اثر درمانی آن بر فیروز ریوی استفاده شود، همچنین جهت مقایسه درصد آنتی اکسیدانی این عصاره اثرات آن با ویتامین E که یک آنتی اکسیدان شناخته شده می باشد مورد مقایسه قرار گرفت.

گیاه درمنه کوهی در طب قدیم بیشتر به عنوان داروی ضد انگل استفاده می شده است اما در تحقیقات اخیر نشان داده شده که این گیاه دارای ترکیبات آنتی اکسیدان می باشد (۱۴).

در بیماری فیروز ریوی، مالون دی آلدئید به دلیل ایجاد رادیکال های آزاد تحت تاثیر بلئومایسین و اثر آن بر لیپیدهای غشاء سلول های ریوی حاصل می شود. در واقع افزایش این ترکیب در سرم خون

مارکری جهت نشان دادن میزان پراکسیداسیون لیپید می باشد. کاهش نسبی مقدار این ماده در تحقیق حاضر مربوط به خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره های درمنه کوهی و مربوط به فلاونوئیدها و فلاونول های این گیاه می باشد که احتمالاً با حذف رادیکال های آزاد تا حدی توانسته بیماری را مهار کند هر چند که نتایج معنی دار مشاهده نشد. تحقیقات جعفری دینانی و همکاران نشان داده که استفاده از عصاره این گیاه در دوره های طولانی تر (دو ماهه) توانسته میزان التهاب در بیماری آترواسکلروز را به طور معنی دار کاهش دهد (۱۳، ۱۴). شاید استفاده از دوره طولانی تر یا دوز بالاتر می تواند نتایج بهتری داشته باشد. البته به این دلیل که دوره های طولانی تر در مدل فیروز ریوی مرگ و میر حیوانات را افزایش می دهد مجبور به استفاده از تیمار ۱۴ روزه بودیم. در تحقیقات گذشته استفاده از این گیاه و یا عصاره آن در درمان و یا پیشگیری فیروز ریه گزارش نشده است. اما ترکیبات آنتی اکسیدان گیاهی مثل چای سبز، جینکگوبیلوبا و ال-کارنیتین نتایج مثبتی در درمان این بیماری داشته اند. این مطلب می تواند بیانگر این موضوع باشد که به طور کلی ترکیبات آنتی اکسیدان می توانند با مهار رادیکال های آزاد اثرات مثبت در درمان این بیماری داشته باشند و پیرو این بحث شاید گیاه درمنه کوهی یکی از این موارد باشد.

سطح سرمی T-AOC، توانایی سیستم آنتی اکسیدانی داخلی سلول ها که شامل سوپر اکسید دسیموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز، کاتالاز، ویتامین C و ویتامین E است را بیان می کند (۲۰). در تحقیق حاضر نشان داده شد که این فاکتور در گروه بلئومایسین در مقایسه با گروه کنترل سالم کاهش معنی دار دارد که می تواند مربوط به تغییر و یا مهار مکانیسم های سنتزی آنتی اکسیدانی داخلی توسط ROS باشد (۲۱). هر دو دوز عصاره مورد استفاده در تحقیق حاضر در مقایسه با گروه بلئومایسین افزایش معنی دار این فاکتور را نشان می دهد که همانطور که ذکر شد این می تواند مربوط به خاصیت آنتی اکسیدانی این عصاره باشد. در واقع به

گروه ها کاملاً به صورت معنی دار مشاهده می شود. نتایج بافت شناسی در مقایسه با نتایج بیوشیمیایی به صورت واضح تر عملکرد مناسب عصاره ها بخصوص در دوز بالاتر را نشان می دهد.

نتیجه گیری:

در نهایت نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که عصاره هیدروالکلی درمنه کوهی بخصوص در دوز ۲۰۰mg می تواند تا حدودی فیروز ریوی را مهار کند و شاید با تحقیقات بیشتر اثرات مثبت آن در بیماری هایی که پروسه التهاب در شروع و پیشرفت آن دخالت دارد (مثل فیروز ریوی) مشخص تر شود. پیشنهاد می شود که در تحقیقات بعدی دوزهای بالاتر این عصاره و دوره طولانی تر مورد استفاده قرار بگیرد و نتایج با نتایج تحقیق حاضر مقایسه گردد.

تشکر و قدردانی:

این پژوهش در قالب پایان نامه کارشناسی ارشد و با حمایت مالی دانشکده علوم دانشگاه اصفهان انجام شده است. بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشکده علوم جهت حمایت مالی و همچنین از زحمات فراوان دکتر شهریار ادیبی که در امر جراحی حیوانات کمک شایانی نمودند کمال تشکر و قدردانی به عمل می آید.

نظر می رسد این عصاره با اثر بر سیستم های سنتزی آنتی اکسیدانی درونی توانسته در تولید و حفظ آنتی اکسیدان های داخل سلولی و در نتیجه کمک به حذف رادیکالهای آزاد عمل کند. تحقیقات نشان داده که ترکیبات پلی فنلی و فلاونوئید ها می توانند سلول ها را در برابر تخلیه گلوکاتایون احیا، با افزایش ظرفیت آنزیم های آنتی اکسیدانی گلوکاتایون، گلوکاتایون ردوکتاز، گلوکاتایون پر اکسیداز و کاتالاز محافظت نماید (۲۲). نتایج به دست آمده توسط Liu و همکاران تایید می کند که ترکیبات آنتی اکسیدانی خارجی قادرند سیستم های آنتی اکسیدانی داخلی را فرا تنظیم کنند. با توجه به نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر مقدار T-AOC در گروه های تیمار شده با عصاره درمنه کوهی حتی در مقایسه با گروه Vitamin E که یک آنتی اکسیدان شناخته شده است و در کاهش فیروز ریوی نیز اثر مثبت داشته بیشتر می باشد که نشان از خاصیت بالای آنتی اکسیدانی در این گیاه می باشد (۱۱). در واقع به نظر می رسد که عملکرد عصاره ها بیشتر از طریق مکانیسم ذکر شده فوق می باشد.

بررسی های بافت شناسی ریه در گروه های تیمار شده نشان داد که آسیب ریوی ناشی از بلئومایسین در مقایسه با گروه بلئومایسین کاهش یافته است (تصویر شماره ۱). مقایسه درجه بندی التهاب و فیروز در این

منابع:

1. Chen F, Gong L, Zhang L, Wang H, Qi X, Wu X, et al. Short courses of low dose dexamethasone delay bleomycin induced lung fibrosis in rats. Eur J Pharmacol. 2006; 536(3): 287-95.
2. ATS (American Thoracic Society) European respiratory society international multidisciplinary consensus classification of the idiopathic interstitial pneumonias. Am J Respir Crit Care Med. 2002; 165: 277-304.
3. Kim DS, Collard HR, King TE. Classification and natural history of the idiopathic interstitial pneumonias. Proc Am Thorax Soc. 2006; 3(4): 285-92.
4. Kuwano K, Kunitake R, Maeyama T, Hagimoto N, Kawasaki M, Matsuba T, et al. Attenuation of bleomycin-induced pneumopathy in mice by a caspase inhibitor. Am J Physiol Lung Cell Molecular Physiol. 2001; 280(2): 316-25.
5. Adamson IY. Pulmonary toxicity of bleomycin. Environ. Health Perspect. 1976; 16: 119-25.

6. Umezawa H. Studies on bleomycin. *Cancer*. 1976; 20: 891-9.
7. Slijfer. Bleomycin-induced pneumonitis. *Chest*. 2001; 120: 617-24.
8. Atzori L, Chua F, Dunsmore SE, Willis D, Barbarisi M, McAnulty RJ, et al. Attenuation of bleomycin induced pulmonary fibrosis in mice using the heme oxygenase inhibitor Zn-deuteroporphyrin IX-2,4-bisethylene glycol. *Thorax*. 2004; 59(3): 217-23.
9. Cortijo J, Cerda-Nicolas M, Serrano A, Bioque G, Estrela JM, Santangelo F, et al. Attenuation by oral N-acetylcysteine of bleomycin-induced lung injury in rats. *Eur Respir J*. 2001 Jun; 17(6): 1228-35.
10. Wang HD, Yamaya M, Okinaga S, Jia YX, Kamanaka M, Takahashi H, et al. Bilirubin ameliorates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002; 165(3): 406-11.
11. Kilinc C, Ozcan O, Karaoz E, Sunguroglu K, Kutluay T, Karaca L. Vitamin E reduces bleomycin-induced lung fibrosis in mice: biochemical and morphological studies. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 1993; 4(3): 249-69.
12. Daba MH, Abdel-Aziz AA, Moustafa AM, Al-Majed AA, Al-Shabanah OA, El-Kashef HA. l-Carnitine and ginkgo biloba extract (EG b 761) in experimental bleomycin induced lung fibrosis. *Pharmacol Res*. 2002; 45(6): 461-7.
13. Asgary S, Jafari Dinani N, Madani H, Mahzouni P. Ethanolic extract of *Artemisia aucheri* induces regression of aorta wall fatty streaks in hypercholesterolemic rabbits. *Pharmazie*. 2008; 63: 394-7.
14. Farzaneh M, Ahmadzadeh M, Hadian J, Tehrani A. Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of three species of *artemisia* on some soil-borne phytopathogens. *Commun Agric Appl Biol Sci*. 2006; 71: 1327-33.
15. Samsam H. [Extracting of assertive materials of herbs and method of their recognition and evaluation. Tehran: Mani Pub; 1992. 293.]Persian
16. Gong LK, Li XH, Wang H, Zhang L, Chen FP, Cai Y, et al. Effect of feilai on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *J Ethnopharmacol*. 2005; 96(3): 537-44.
17. Yagi KA. Simple fluourometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem Med*. 1976; 15: 212-16.
18. Zhu QY, Holt RR, Lazarous ShA, Orozco TJ, Keen CL. Inhibitory effects of coca flavonols and procyanidin oligomers on free radical- induced erythrocyte hemolysis. *Exp Biol Med*. 2002; 227(5): 321-9.
19. Garvey W. Modified elastic tissue-masson trichrome stain. *Stain Technol*. 1986; 59: 213-6.
20. Chapman AH. A Fast pathway to pulmonary fibrosis. *J Clin Invest*. 1999; 104: 1-2.
21. Liu R, Ahmed KM, Nantajit D, Rosenthal FS, Hai CX, Li JJ. Therapeutic effects of α -lipoic acid on bleomycin- induced pulmonary fibrosis in rats. *Int J Molecular Med*. 2007; 19: 865-73.
22. Baer-Dubowska W, Saefer H, Krajka- Kuzniak V. Inhibition of morin hepatic cytochrom p750 activities by natural and synthetic phenolic compounds. *Xenobiotica*. 1998; 28: 735-43.

Received: 26/May/2010

Revised: 13/Nov/2010

Accepted: 26/Dec/2010

The effects of hydroalcoholic extract of *Artemisia aucheri* on bleomycin induced pulmonary fibrosis in rats

Bahrami-Karkevandi M (MSc)*¹, Moshtaghian SJ (PhD)¹, Madani SH (PhD)¹, Mahzoni P (MD)², Adibi Sh (DVM)³, Kazemi S (MSc)¹

¹Biology Dept., Isfahan University, Isfahan, Iran, ²Phatologhy Dept., Isfahan Univ of Med Sci, Isfahan, Iran, ³Arman Pajohan Research Center, Isfahan, Iran.

Background and aim: Pulmonary fibrosis is one of common side effect of bleomycin, which is administered as a chemotherapeutic agent. Current evidence suggests that reactive oxygen species (ROS) may play a key role in the development of pulmonary fibrosis. This study was designed to investigate the effects of hydroalcoholic extract of *Artemisia aucheri* with some antioxidant effects on bleomycin induced pulmonary fibrosis in rats.

Methods: In this experimental study, thirty five Sprague Dawley rats were semi randomly divide into five groups of seven. In four groups of animals bleomycin sulfate (5 mg/Kg) was used for intra-trachea instillation. Two groups of animals received 100 and 200 mg/kg (i.p) *Artemisia aucheri* extracts (AAE) and one group received vitamin E (10mg/kg, i.p.) for two weeks. Same amount of saline was administered to the control group. At the end of experimental period, malondialdehyde (MAD) and total antioxidant capacity (T-AOC) serum levels were determined. Lung tissue samples from the all animals were collected for histological investigation.

Results: Treatment by AAE and Vitamin E caused decrease in the serum levels of malondialdehyde (MAD) which were not significant, whereas a significant increase was observed in the serum level of total antioxidant capacity.

Discussion: The findings of this study suggest that antioxidant compounds of AAE may have therapeutic effect for pulmonary fibrosis.

Keywords: *Artemisia aucheri*, *Bleomycin*, *Pulmonary fibrosis*.

***Corresponding author:**
Biology Dept., Sciences
Faculty, Isfahan University,
Isfahan, Iran.
Tel:
09356396653
E-mail:
Bahramik54@yahoo.com